



⑮ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 100 33 219 A 1**

⑤① Int. Cl.⁷:
A 61 K 38/19

⑳ Aktenzeichen: 100 33 219.6
㉔ Anmeldetag: 7. 7. 2000
㉕ Offenlegungstag: 24. 1. 2002

DE 100 33 219 A 1

㉗ Anmelder:
Universität Heidelberg, 69117 Heidelberg, DE

㉘ Erfinder:
Erfinder wird später genannt werden

㉙ Entgegenhaltungen:
WO 99 17 798 A1
WO 00 04 926 A2
JP 05-2 46 885 A

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Neuroprotektive Wirkung von Granulozyten-Colony Stimulierendem Faktor (G-CSF)

⑤⑦ Verwendung von G-CSF (Granulozyten Colony Stimulating Factor) zur Herstellung pharmazeutischer Präparate mit neuroprotektiver Wirkung zur Behandlung akuter Ischämien wie z. B. Apoplexie und neurodegenerativer Erkrankungen wie z. B. bei der Parkinson- oder Alzheimer-Krankheit.

DE 100 33 219 A 1

DE 100 33 219 A 1

1

Beschreibung

[0001] Verwendung von G-CSF (Granulozyten Colony Stimulating Factor) zur Herstellung pharmazeutischer Präparate mit neuroprotektiver Wirkung zur Behandlung akuter Ischämien.

[0002] Der Schlaganfall (Apoplexia cerebri) ist die dritthäufigste Todesursache in den westlichen Industrieländern, zählt zu den führenden Ursachen dauernder Invalidität und Pflegebedürftigkeit und damit – ökonomisch betrachtet – zu der teuersten Krankheitsgruppe überhaupt. Zur Zeit erleiden in Deutschland etwa 150.000 Einwohner pro Jahr einen Schlaganfall, davon sterben 15–20 Prozent der Patienten innerhalb der ersten vier Wochen. Nur etwa ein Drittel der überlebenden Patienten erholt sich ohne größere bleibende Behinderung, während ebenfalls ein Drittel durch Lähmungen oder andere neurologische Ausfälle dauerhaft schwer behindert bleibt. Bei 80 Prozent der Patienten liegt dem Schlaganfall eine Durchblutungsstörung mit nachfolgender Ischämie in einem umschriebenen Gefäßterritorium zugrunde. Zu Durchblutungsstörungen im Gehirn kommt es meist entweder makroangiopathisch durch Thrombembolien bzw. hämodynamische Strömungsverlangsamungen oder mikroangiopathisch durch eine blutdruckbedingte Arteriosklerose der kleinen, intrazerebralen Endarterien. Dabei begünstigen eine Reihe von Risikofaktoren das Auftreten eines Schlaganfalles. Dies sind insbesondere die arterielle Hypertonie, zahlreiche Herzkrankungen, die mit einem erhöhten Embolierisiko verbunden sind – vor allem das Vorhofflimmern –, der Diabetes mellitus, Zigarettenrauchen, Blutgerinnungsstörungen und zu einem geringeren Anteil die Hypercholesterinämie. Durch embolischen oder lokal thrombotischen Verschluss einer der großen hirnversorgenden Arterien entstehen die Territorialinfarkte, d. h. Infarkte, die ein umschriebenes Gebiet innerhalb des Versorgungsgebietes einer bestimmten Hirnarterie betrifft. Am häufigsten ist dabei das Versorgungsgebiet der Arteria cerebri media betroffen, ein Mediaterritorialinfarkt mit einem entsprechenden "Mediasyndrom" entsteht. Dies ist auch die häufigste Manifestation eines Schlaganfalles überhaupt. Bisher ist nur bei ausgewählten Patienten eine thrombolytische Therapie erfolgversprechend. In den letzten Jahren hat sich durch neue pathophysiologische Erkenntnisse und Methoden die Diagnostik und Therapie akuter zerebraler Ischämien erheblich gewandelt. Die Thrombolyse bietet die Möglichkeit zur therapeutischen Intervention innerhalb eines "therapeutischen Fensters" von 3 bis 6 Stunden nach Infarktereignis. Ziel ist die rasche Auflösung des Gefäßverschlusses und damit die Wiederherstellung der zerebralen Durchblutung und Verbesserung der neurologischen Symptomatik. Dies basiert auf der pathophysiologischen Vorstellung, dass die Wiedereröffnung eines verschlossenen zerebralen Gefäßes den Erhalt hypoperfundierten, reversibel geschädigten Hirngewebes (der sogenannten ischämischen Penumbra), und damit die Wiederherstellung neuronaler Funktionen unterstützt. Bisher kann diese Behandlung allerdings nur in ausgewiesenen neurologischen Zentren durchgeführt werden. Auch die Zulassung von rt-PA beim Schlaganfall in Deutschland steht noch aus. Die Lysetherapie nach 6 Stunden gilt als besonders nebenwirkungsreich (erhöhte Zahl intrakranieller Blutungen) und sollte daher unterbleiben. Andere Therapieverfahren sind zur Zeit nicht evaluiert. Momentan werden verschiedene andere Substanzen untersucht. Hier sind vor allem sog. Wachstumsfaktoren (bFGF) und Pharmaka, die die Thrombozytenadhäsion blockieren (anti-GP IIb/IIIa, Abciximab), zu nennen. In den letzten Jahren wurden zahlreiche neuroprotektive Substanzen in klinischen Studien untersucht. Leider konnte keine dieser bisher getesteten Substan-

2

zen, die sämtlich im Tiermodell neuroprotektiv wirkten, in der klinischen Praxis ihren Nutzen beweisen. Vor allem die Glutamat-Antagonisten, freie Radikalfänger und NMDA Antagonisten blieben ohne klinischen Nutzen; oder zeigten im Gegenteil sogar erhebliche Nebenwirkungen, die den klinischen Einsatz unmöglich machen (Psychosen etc.). Andere Substanzen, die die leukozytäre Wandadhäsion hemmen (anti-ICAM-1) oder der Inhibitor der Glutamat-vermittelten NO Synthetase (Lubeluzol) blieben ohne positiven Effekt.

[0003] Aufgabe der Erfindung ist die Folgen einer akuten Ischämie zu lindern oder zu beseitigen durch Verabreichung von Substanzen mit neuroprotektiver Wirkung. Diese Aufgabe wird durch das Verfahren mit den Merkmalen des Anspruchs 1 gelöst.

[0004] Die Verwendung von G-CSF (Granulozyten Colony Stimulating Factor) zur Herstellung pharmazeutischer Präparate mit neuroprotektiver Wirkung zur Behandlung akuter Ischämien stellt einen erfolgreichen Therapieansatz mittels neuroprotektiver Wachstumsfaktoren dar.

[0005] G-CSF, englische Abkürzung für "Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF)", reguliert als endogener, hämatopoetischer Wachstumsfaktor die Reifung, Proliferation und Differenzierung von neutrophilen Granulozyten. G-CSF wird natürlicherweise von verschiedenen Monozyten, Makrophagen und T-Lymphozyten als Glykoprotein gebildet und zu den Cytokinen gezählt. G-CSF wird als rekombinanter humaner Faktor Filgrastim (Neupogen®/Firma Amgen GmbH, CAS-Nr. 121181-53-1) bereits zur Behandlung von Neutropenien und neutropenischem Fieber eingesetzt. Weitere rekombinante humane G-CSF sind Lenograstim und Molgramostim. Eine neuroprotektive Wirkung von G-CSF wurde bisher noch nicht beschrieben.

[0006] An 24 Wistar-Ratten wurde durch das international anerkannte Fadenmodell nach Longa et al eine 90 minütige Ischämie induziert. 30 Minuten nach Ischämieinduktion wurden 12 Ratten (n = 12) 2 ml NaCl intravenös über insgesamt 90 min infundiert; diese dienten als Kontrollgruppe (K). Die Therapiegruppe (T; n = 12) erhielt über denselben Zeitraum 20 Mikrogramm G-CSF in 2 ml NaCl gelöst. Vor Ischämieinduktion und 1, 2, 3, 4 und 24 Stunden danach wurde mittels ELISA (Biosource Europe, Fleurus, Belgien) die Konzentration von Interleukin 1-beta, IL-2, IL-6 und IL-10 bestimmt. Nach 24 Stunden wurden die Gehirne entnommen und von frontal 5 Himschnitte mit 2 mm Dicke angefertigt. Mittels TTC-Färbung wurde anhand von Schnitt 1, 2, 4 und 5 die Infarkt- und Hirnödempgröße bestimmt. Schnitt 3 wurde weiter histologisch aufgearbeitet. Um die zerebrale Invasion mit neutrophilen Granulozyten nachzuweisen, wurde eine Myeloperoxidasefärbung MPO (DAKO, Carpinteria, CA, USA) durchgeführt. Durch Zugabe eines Anti-G-CSF-Antikörpers sollten Hinweise auf eine bisher noch nicht beschriebene Existenz des G-CSF-Rezeptors gefunden werden.

[0007] Zerebelläre Granulazellen wurden von P7-Mäusen gewonnen und nach einem etablierten Zellkulturmodell aufgearbeitet und gezüchtet. Nach 7 Tagen wurden die Granulazellen mit G-CSF behandelt und nach 30 min Glutamat zugegeben. Um die Überlebensrate der Zellen zu testen, wurde 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT, Sigma, München) 2 Stunden nach Glutamatstimulation appliziert. Nach weiteren 4 Stunden wurden die Zellen mit 1% SDS lysiert. Die Proben wurden bei 590 nm optischer Dichte gemessen. Des Weiteren wurde mittels einer PCR der G-CSF-Rezeptor nachgewiesen werden. Dazu wurde aus Mäusegehirnen RNA extrahiert (RNA-kit, AGS, Heidelberg). 10 Mikrogramm RNA wurden mit MMLV reverser Transkriptase transkribiert. Für die PCR

DE 100 33 219 A 1

3

wurden Primer von Exon 5 und 7 des G-CSF-Rezeptors benutzt (Ashihara, 1997). Die statistische Analyse erfolgte für das Tierexperiment nach Anova mit Bonferroni-Korrektur für multiple Gruppen.

[0008] Kontroll- und Therapiegruppe unterschieden sich nicht in den gemessenen physiologischen Parametern (BGA, HKT, Blutdruck und Körpergewicht). Nach 24 Stunden wurde eine leichte Erhöhung der im Blut vorhandenen neutrophilen Granulozyten festgestellt, die nicht signifikant war. Die Infarktgröße in den TTC-Schnitten betrug für die G-CSF-behandelte Gruppe (T) 6,7% \pm 6,7% (n = 12) des Gesamthirnvolumens und war damit signifikant (p < 0,05) geringer als die der Kontrollgruppe mit 22,7% \pm 6,3% (n = 12). Das errechnete Hirnödeme war mit 4,7% \pm 6,6% in der G-CSF-Gruppe ebenfalls signifikant (p < 0,05) geringer als in der nicht-behandelten Gruppe mit 12,0% \pm 6,1%. Für alle gemessenen Interleukine bis auf IL-2 konnten signifikant geringere Serumwerte in der G-CSF-Gruppe nachgewiesen werden (p < 0,05). In der histologischen Auswertung des Hirnschnittes 3 konnte bei der MPO-Färbung für beide Tiergruppen lediglich eine Zunahme der Invasion von neutrophilen Granulozyten festgestellt werden, die mit der Größe des Infarktes zunahm. Signifikante Unterschiede wurden nicht beobachtet. An den Hirnschnitten konnte die Bindung von anti-Rezeptor-G-CSF sowohl an Neuronen als auch an Axonen und Dendriten nachgewiesen werden. In der Zellkultur konnte eine signifikante Abnahme des Zelluntergangs beobachtet werden. Dieser Effekt nahm mit steigender G-CSF-Dosis zu. Die PCR wies durch PT-PCR den Mausrezeptor im Hirngewebe nach. Das PCR-Produkt hatte die erwartete Größe von 567 bp und wurde durch PCR-Sequenzierung verifiziert.

[0009] Die Ergebnisse zeigen, dass G-CSF neuroprotektive Eigenschaften besitzt. Diese konnten sowohl im Tierexperiment über eine Verminderung des Infarktareals und Hirnödems in der G-CSF-behandelten Gruppe als auch an der Zellkultur durch einen mittels G-CSF verminderten Glutaminschaden bewiesen werden. Wirkmechanismen bestehen in einer Aktivierung des intrazerebralen G-CSF-Rezeptors, und eine Verminderung bestimmter Interleukine, die in die Entzündungsvorgänge bei zerebraler Ischämie eingreifen. Da G-CSF endogen produziert wird, einen zerebralen Rezeptor besitzt und neuroprotektive Eigenschaften aufweist, reiht es sich in die Reihe der Neurotrophine wie BDNF, IGF und NGF ein. Nebenwirkungen konnten in unserem Experiment nicht festgestellt werden.

[0010] Da G-CSF ein seit mehreren Jahren etabliertes Medikament mit geringer Nebenwirkungsrate ist, enthält unsere Anwendungsmöglichkeit bei zerebraler Ischämie eine große praktische Relevanz. G-CSF stellt einen wirkungsvollen pharmazeutischen Wirkstoff für die bisher unbefriedigende Schlaganfalltherapie dar.

Patentansprüche

1. Verwendung von G-CSF (Granulozyten Colony Stimulating Factor) zur Herstellung pharmazeutischer Präparate mit neuroprotektiver Wirkung zur Behandlung akuter Ischämien und neurodegenerativer Erkrankungen.

2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass G-CSF ein Polypeptid und/oder ein Glycoprotein ist, und/oder ein Derivat und/oder ein Analogon von G-CSF ist, welches Granulozyten Zellkolonie stimulierende Aktivität hat.

3. Verwendung nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass G-CSF entweder chemisch-synthetisch (z. B. Derivate, Analoga, Isomere) und/oder re-

4

kombinant hergestellt und/oder aus G-CSF bildenden Zellen isoliert wird.

4. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass akute Ischämien wie z. B. bei Apoplexie, Schädel-Hirn-Trauma oder Tumoren behandelt werden.

5. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass neurodegenerative Erkrankungen wie z. B. Parkinson, Alzheimer behandelt werden.

6. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das pharmazeutische Präparat fest, flüssig oder aerosolartig (z. B. Spray) ist.

7. Handelspackung enthaltend ein G-CSF haltiges pharmazeutisches Präparat zusammen mit Instruktionen für die Verwendung von G-CSF bei der neuroprotektiven Behandlung von akuter Ischämie oder neurodegenerativen Erkrankungen.

- 1 -

19 FEDERAL REPUBLIC
OF GERMANY

12 **Offenlegungsschrift**
[Unexamined Application]

51 Int. Cl.⁷:
A 61 K 38/19

10 **DE 100 33 219 A1**

GERMAN
PATENT AND
TRADEMARK OFFICE

21 Serial No.: 100 33 219.6
22 Application date: 7 July 2000
43 Date laid open: 24 January 2002

71 Applicant:
University of Heidelberg,
69117 Heidelberg, DE

72 Inventor:
Inventor will be named later

56 Cited references:
WO 9917798 A1
WO 0004926 A2
JP 05-24[?]885 A

The following text is taken from the documents filed by the Applicant

Request for examination per § 44 Patent Act has been filed

54 Neuroprotective effect of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF)

57 The use of G-CSF (granulocyte colony
stimulating factor) for synthesis of
pharmaceutical preparations with
neuroprotective effect for treatment of acute
ischemias such as apoplexy and
neurodegenerative diseases such as
Parkinson's or Alzheimer's disease.

- 2 -

Description

[0001] The use of G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) for synthesis of pharmaceutical preparations with neuroprotective effect for treatment of acute ischemias.

[0002] Strokes (apoplexia cerebri) are the third-most common cause of death in the western industrial countries. They are also one of the leading causes of permanent disability and need for nursing care and so – from the economic viewpoint – they constitute one of the most costly groups of diseases of all. In Germany, approximately 150,000 persons per year can now be expected to suffer a stroke. Of those, 15 to 20 per cent die within the first four weeks. Only about one third of the surviving patients recover without serious lasting hindrance, whereas another third becomes permanently severely hindered by paralyses or other neurological conditions. In 80 per cent of the patients, the stroke results from a blood circulation disorder with subsequent ischemia in a local vascular territory. Blood circulation disorders in the brain are usually caused either macroangiopathically by thromboembolisms or hemodynamic retardation of blood flow, or microangiopathically in the small, intracerebral endarteries due to arteriosclerosis caused by blood pressure. In this context, the occurrence of strokes is favored by a series of risk factors, especially high arterial pressure, numerous heart diseases, which are associated with increased risk of embolisms – especially atrial fibrillation – diabetes mellitus, cigarette smoking, blood coagulation disorders and, to a lesser extent, high blood cholesterol. Embolic or thrombotic occlusion of one of the large arteries that supply the brain lead to territorial infarctions, which affect a local zone within the blood supply area of a given cerebral artery. The most frequent case is that of the supply area of the middle cerebral artery, involving a medial territorial infarction with corresponding “medial syndrome”. This is also the most frequent of all manifestations of a stroke. Heretofore thrombolytic therapy has been promising only for selected patients. In recent years the diagnosis and therapy of acute cerebral ischemias has changed considerably due to new pathophysiological knowledge and methods. Thrombolysis offers the possibility of therapeutic intervention within a “therapeutic window” of 3 to 6 hours after an infarction has occurred. The objective is rapid resolution of the vascular occlusion and thus restoration of the cerebral blood circulation and improvement of the neurological symptoms. This is based on the pathophysiological idea that reopening of an occluded cerebral vessel

- 3 -

supports the preservation of hypoperfused, reversibly damaged brain tissue (otherwise known as ischemic penumbra) and thus restoration of neuronal functions. Heretofore, however, this treatment has been possible only in accredited neurological centers. Even the approval of rt-PA for strokes is still pending in Germany. Lysotherapy after 6 hours appears to lead to a particularly large number of adverse effects (increased number of intracranial hemorrhages) and should therefore be avoided. Other therapeutic procedures have not yet been evaluated. For the time being, various other substances are being investigated. They include in particular growth factors (bFGF) and drugs that block thrombocyte adhesion (anti-GP IIb/IIIa, abciximab). In recent years, numerous neuroprotective substances have been investigated in clinical studies.

Unfortunately, although all of these substances tested so far have exhibited neuroprotective effects in animal experiments, none has shown any benefits in clinical practice. In particular, the glutamate antagonists, free radical scavengers and NMDA antagonists have not exhibited any clinical benefits, or to the contrary have even caused considerable adverse effects, which make clinical use impossible (psychoses, etc.). Other substances that prevent adhesion of leukocytes to vessel walls (anti-ICAM-1), or the inhibitor of glutamate-mediated NO synthetase (Lubeluzol) have not exhibited positive effects.

[0003] The object of the invention is to alleviate or eliminate the consequences of acute ischemia by administration of substances with neuroprotective effect. This object is achieved by the method having the features of claim 1.

[0004] The use of G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) for synthesis of pharmaceutical preparations with neuroprotective effect for treatment of acute ischemias represents a successful therapeutic approach based on neuroprotective growth factors.

[0005] G-CSF, the English abbreviation for "granulocyte colony stimulating factor (G-CSF)", is an endogenous, hematopoietic growth factor that regulates the maturation, proliferation and differentiation of neutrophilic granulocytes. G-CSF is formed naturally as a glycoprotein by various monocytes, macrophages and T-lymphocytes, and is a member of the cytokines. G-CSF is already being used as the recombinant human factor known as filgrastim (Neupogen®/Amgen GmbH, CAS No. 121181-53-1) for the treatment of neutropenias and neutropenic fever. Further recombinant human G-CSFs are lenograstim and molgramostim. Heretofore a neuroprotective effect of G-CSF has not been described.

- 4 -

[0006] Using the internationally recognized thread model according to Longa et al., a 90-minute ischemia was induced in 24 Wistar rats. 30 minutes after ischemia induction, 12 rats ($n = 12$) received an intravenous infusion of 2 ml of NaCl within 90 minutes in total; these were classified as the control group (K). The therapy group (T, $n = 12$) received 20 micrograms of G-CSF dissolved in 2 ml of NaCl over the same period. Before ischemia induction and 1, 2, 3, 4 and 24 hours thereafter, the concentrations of interleukin 1-beta, IL-2, IL-6 and IL-10 were assayed by ELISA (Biosource Europe, Fleurus, Belgium). After 24 hours the brains were excised and 5 frontal brain sections of 2 mm thickness were prepared. The size of the infarction and cerebral edema was determined by TTC staining of sections 1, 2, 4 and 5. Section 3 was subjected to further histological conditioning. In order to demonstrate the cerebral invasion with neutrophilic granulocytes, myeloperoxidase (MPO) staining was performed (DAKO, Carpinteria, CA, USA). By addition of an anti-G-CSF antibody, it was attempted to find indications of the existence of the G-CSF receptor, which has not been described heretofore.

[0007] Cerebellar granulocytes were obtained from P7 mice and conditioned and cultured according to an established cell-culture model. After 7 days the granulocytes were treated with G-CSF, then glutamate was added after 30 minutes. In order to test the survival rate of the cells, 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma, Munich) was applied 2 hours after glutamate stimulation. After a further 4 hours, the cells were lysed with 1% SDS. The optical density of the samples was measured at 590 nm. In addition, the G-CSF receptor was detected by means of PCR. For this purpose, RNA was extracted from mouse brains (RNA kit, AGS, Heidelberg). 10 micrograms of RNA was transcribed with MMLV reverse transcriptase. For the PCR, primers of exon 5 and 7 of the G-CSF receptor were used (Ashihara, 1997). The statistical analysis for the animal experiment was performed according to Anova with the Bonferroni correction for multiple groups.

[0008] The control and therapy groups did not differ in the measured physiological parameters (BGA, HKT, blood pressure and body weight). After 24 hours, a slight but non-significant elevation of the neutrophilic granulocytes present in the blood was observed. The infarction size in the TTC sections was $6.7\% \pm 6.7\%$ ($n = 12$) of the total brain volume for the group (T) treated with G-CSF, and thus was significantly ($p < 0.05$) smaller than that of the control group with $22.7\% \pm 6.3\%$ ($n = 12$). The calculated cerebral edema was also significantly ($p < 0.05$) smaller

- 5 -

($4.7\% \pm 6.6\%$) in the G-CSF group than in the untreated group ($12.0\% \pm 6.1\%$). For all measured interleukins except IL-2, significantly lower serum levels were found in the G-CSF group ($p < 0.05$). In the histological evaluation of brain section 3 after MPO staining, only an increase – which became larger with infarction size – of the invasion of neutrophilic granulocytes was found for both animal groups. Significant differences were not observed. In the brain sections, binding of anti-receptor G-CSF not only to neurons but also to axons and dendrites was detected. In the cell culture, a significant decrease of cell death was observed. This effect became more pronounced with increasing G-CSF dose. By means of PT-PCR, the PCR revealed the mouse receptor in the brain tissue. The PCR product had the expected size of 567 bp and was verified by PCR sequencing.

[0009] The results show that G-CSF has neuroprotective properties. These were demonstrated both in the animal experiment, through a reduction of infarction area and of cerebral edema in the group treated with G-CSF, and in the cell culture, where glutamate damage was reduced by means of G-CSF. The mechanisms of action comprise activation of the intracerebral G-CSF receptor and reduction of certain interleukins, which contribute to inflammation processes in cerebral ischemia. Since G-CSF is produced endogenously, has a cerebral receptor and exhibits neuroprotective properties, it is a member of the neurotrophin series, such as BDNF, IGF and NGF. Adverse effects were not found in our experiments.

[0010] Since G-CSF is a drug that was established several years ago and that has few adverse effects, our ability to use it for cerebral ischemia has great practical relevance. G-CSF represents an effective pharmaceutical ingredient for stroke therapy, which heretofore has been unsatisfactory.

Claims

1. The use of G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) for synthesis of pharmaceutical preparations with neuroprotective effect for treatment of acute ischemias and neurodegenerative diseases.

- 6 -

2. The use according to claim 1, characterized in that G-CSF is a polypeptide and/or a glycoprotein, and/or a derivative and/or an analog of G-CSF, which has granulocyte colony stimulating activity.
3. The use according to claim 1 and 2, characterized in that G-CSF is synthesized either by chemical techniques (in the form of derivatives, analogs, isomers) and/or by recombinant techniques, and/or is isolated from cells that form G-CSF.
4. The use according to claim 1, characterized in that there are treated acute ischemias, such as apoplexy, cranial brain trauma or tumors.
5. The use according to claim 1, characterized in that there are treated neurodegenerative diseases such as Parkinson's and Alzheimer's.
6. The use according to claim 1, characterized in that the pharmaceutical preparation is a solid, liquid or aerosol (such as a spray).
7. A commercial pack comprising a pharmaceutical preparation containing G-CSF together with instructions for use of G-CSF in neuroprotective treatment of acute ischemia or of neurodegenerative diseases.